

PRODUKSI PEKTIN BERMETOKSIL RENDAH DARI KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle) SECARA SPONTAN MENGGUNAKAN PELARUT AMONIUM OKSALAT DAN ASAM

Sri Usmiati¹, Djumali Mangunwidjaja², Erliza Noor³, Nur Richana¹ and Endang Prangdimurti²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 12, Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor, Indonesia

²Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

(Diterima 01-03-2016; Disetujui 08-08-2016)

ABSTRAK

Pengembangan teknologi ekstraksi pektin bermetoksil rendah terus dieksplorasi karena tanaman sumber yang relatif terbatas. Tujuan penelitian adalah untuk memperoleh pektin bermetoksil rendah langsung dari ekstraksi kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). Penelitian didahului oleh dua tahap penelitian pendahuluan menggunakan rancangan acak lengkap yang masing-masing bertujuan memperoleh suhu ekstraksi (tahap pertama) dan lama waktu ekstraksi (tahap kedua) terbaik untuk digunakan sebagai kondisi proses ekstraksi pada penelitian utama. Desain penelitian utama menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah tipe pelarut (P): P1 (amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat) dan P2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida), dan faktor kedua pH (K): K1 (pH 1) dan K2 (pH 2), serta sebagai pembanding adalah menggunakan pelarut P0 [asam sitrat, asam klorida; pH 2,0]. Ekstraksi suksesif dua tahap menggunakan suhu 100°C dilakukan selama 45 menit dengan pelarut amonium oksalat+asam oksalat, dilanjutkan 10 menit menggunakan pelarut asam sitrat atau asam klorida. Parameter pengukuran meliputi rendemen, derajat esterifikasi (DE), kadar asam uronat, kadar metoksil, kadar air, kadar abu, serta berat ekuivalen. Dari hasil penelitian diketahui bahwa interaksi tipe pelarut dan pH pada perlakuan P2K2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida) dapat langsung menghasilkan pektin bermetoksil rendah dari kulit jeruk nipis dengan nilai DE 45,77%, kadar metoksil 1,53% dan kadar abu 4,77%. Pelarut amonium oksalat+asam oksalat (t1) dan asam klorida (t2) (P2) pada kedua tingkat pH menghasilkan rendemen pektin 10,0%, kadar AUA 19,21%, dan nilai BE 1878,82. Kadar air pektin sebesar 7,91% dihasilkan dari tingkat pH 2 (K2) pada kedua tipe pelarut. Untuk memperoleh pektin bermetoksil rendah dari kulit jeruk nipis direkomendasikan menggunakan pelarut P2K2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 2) pada suhu ekstraksi 100°C.

Kata kunci: kulit jeruk nipis, pektin bermetoksil rendah, amonium oksalat-asam oksalat, asam klorida, derajat esterifikasi

ABSTRACT

Usmiati S, Mangunwidjaja D, Noor E, Richana N, and Prangdimurti E. 2016. Spontaneously production of low methoxyl pectin from peel of *Citrus aurantifolia* Swingle using solvent of ammonium oxalate and acid. The development of extraction technology of low methoxyl pectin/LMP continue to be explored caused by limited the plant source. The research objective was to obtain low methoxyl pectin directly from the pectin extraction of lime peel (*Citrus aurantifolia* Swingle). The study was preceeded by a two-stage preliminary researches using a completely randomized design, each of which was to obtain the best temperature (first stage) and duration of extraction (second stage) to be used as a condition of extraction process in the primary research. The primary research used factorial completely randomized design with three replications. The first factor was solvent type (P): P1 (ammonium oxalate+oxalic acid, citric acid) and P2 (ammonium oxalate+oxalic acid, hydrochloric acid), and the second factor was pH (K): K1 (pH 1) and K2 (pH 2), as well as control was solvent P0 [citric acid (t1), hydrochloric acid (t2); pH 2.0]. Successive two-stage extraction on 100°C was done for 45 minutes using ammonium oxalate+oxalic acid followed by 10 minutes using citric acid or hydrochloric acid. Measurement parameters included yield, degree of esterification (DE), anhidrouronic acid/AUA levels, methoxyl content, moisture content, ash content, and equivalent weight. From the results of research, the interaction between solvent tipe and acidity level of P2K2 (ammonium oxalate+oxalic acid, hydrochloric acid; pH 2) could directly produce LMP from extraction of lime peel characterized by DE of 45.77%, methoxyl content of 1.53% and ash content of 4.77%. Effect of solvent of ammonium oxalate+oxalic acid, hydrochloric acid (P2) at both pH levels resulted pectin yield of 10.0%, AUA of 19.21%, and equivalent weight of 1878.82. The pectin moisture of 7.91% was produced from acidity of pH 2 (K2) on both type of solvent. To obtain LMP from peel of *Citrus aurantifolia* Swingle it was recommended to use the extraction solvent of P2K2 (ammonium oxalate+oxalic acid, hydrochloric acid; pH 2) on temperature of 100°C.

Key words: Lime peel, low methoxyl pectin, ammonium oxalate-oxalic acid, hydrochloric acid, degree of esterification

PENDAHULUAN

Pektin merupakan polisakarida yang digunakan sebagai material fungsional dalam pangan dan farmasi. Tanaman sumber pektin yang potensial tersedia cukup banyak, terutama buah-buahan. Pektin dapat diekstrak dari bagian daging buah, bunga, dan limbah (kulit, biji, pomace). Penelitian ekstraksi pektin dari berbagai sumber tersebut antara lain dari daging buah plum Jepang¹, kiwi², bunga matahari³, kulit kakao⁴, kulit buah naga⁵, kulit pisang⁶, kulit nanas⁷, kulit jeruk^{8,9}, kulit lemon¹⁰, kulit markisa¹¹, kulit mangga¹², pomace apel^{13,14}, pomace lemon¹⁵, cake kanola¹⁶, dan biji bunga dollar rambat¹⁷. Pektin komersial terutama diekstrak dari kulit jeruk dan buah apel sebagai limbah dari pabrik penghasil jus. Buah apel mengandung 10-15% pektin basis kering, sementara kulit jeruk mengandung pektin 20-30% lebih tinggi dibandingkan apel¹⁸.

Jenis buah lain yang juga potensial sebagai sumber pektin adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*). Pektin dapat ditemukan melimpah dalam epikarp (flavedo), mesokarp (albedo) dan endokarp (porsi edible) dari jeruk nipis¹⁹. Di Indonesia, khususnya kabupaten Kuningan sebagai penghasil sirup jeruk nipis peras (jeniper) limbah kulit jeruk nipis sering menimbulkan masalah polusi lingkungan. Metode/teknologi yang sesuai perlu diadopsi untuk pemanfaatannya yaitu dengan mengkonversi menjadi produk yang bernilai tambah. Recovery dari limbah kulit jeruk dapat meningkatkan hasil ekonomi dari suatu unit pengolahan, selain mengurangi masalah polusi lingkungan.

Pektin dibedakan kedalam dua tipe berdasarkan derajat esterifikasi (DE/degree of esterification) yaitu pektin bermetoksil tinggi (high methoxyl pectin/HMP, DE >50%) dan pektin bermetoksil rendah (low methoxyl pectin/LMP; DE <50%). Dalam dunia perdagangan, harga LMP relatif mahal karena banyak digunakan untuk matriks penjerap, pengkapsul, serta penghantar mikromolekul dan makromolekul penting, dan sel-sel hidup untuk mencapai target pelepasan dalam tubuh. Pektin bermetoksil rendah dapat diisolasi dalam jumlah yang sedikit dari tanaman sumber yang relatif terbatas diantaranya diekstrak dari daging jambu mete¹³, kulit buah naga⁵, kulit jeruk manis²⁰, kulit pepaya²¹, kulit nangka²², buah plum Jepang¹, kulit markisa²³, biji bunga dollar rambat¹⁷, cake kanola¹⁶ dan bunga matahari²⁴.

Teknologi ekstraksi LMP dari berbagai sumber masih terus dieksplorasi. Teknik ekstraksi pektin menggunakan asam biasanya menghasilkan pektin dengan DE tinggi²⁵. Ekstraksi pektin jeruk nipis dengan *Microwave Assisted-Extraction* menghasilkan pektin bermetoksil tinggi¹⁹. Teknologi ekstraksi LMP antara lain dapat dilakukan

dengan demetilasi terhadap HMP. Metode demetilasi antara lain: (a) demetilasi asam; (b) demetilasi basa; (c) demetilasi enzimatis; dan (d) demetilasi dan amidasi menggunakan amonia dalam alkohol atau pengentalan dengan amonia cair. Demetilasi dengan amonia dalam sistem cairan menunjukkan gugus metoksil pektin lebih mudah terakses ke amonia²⁶. Produksi LMP dari kulit jeruk nipis secara langsung dengan pelarut kombinasi amonia dan asam belum dipelajari secara ekstensif.

Proses hidrolisis dan ekstraksi makromolekul pektin dari jaringan tanaman, dan kelarutannya dapat berubah di bawah pengaruh beberapa faktor (suhu, pH, waktu, tipe pelarut ekstraksi). Kombinasi beberapa faktor perlu ditetapkan untuk memperoleh kondisi optimal ekstraksi pektin. Tujuan penelitian adalah mendapatkan pektin bermetoksil rendah dari kulit jeruk nipis secara langsung menggunakan pelarut kombinasi amonium oksalat+asam oksalat dengan asam pada tingkat keasaman rendah berdasarkan parameter proses pH, suhu, dan waktu.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jeruk nipis *Citrus aurantifolia Swingle* yang diperoleh dari Kelompok Wanita Tani (KWT) Cimanggu, sebagai limbah dari proses produksi jeruk nipis peras. Bahan kimia yang digunakan terdiri atas etanol absolut p.a (Merck), amonium oksalat p.a (Merck), asam oksalat p.a (Merck), asam sitrat p.a (Merck), asam klorida p.a (Merck), natrium hidroksida p.a (Merck), natrium klorida p.a (Merck), indikator fenol merah, dan alkohol teknis. Peralatan yang digunakan adalah water bath (K&K, Korea), inkubator (Lab-Line), refrigerator, peralatan gelas, baki gelas, corong saring, dan lembaran kertas saring halus ukuran 60cmx60cm (Filtira).

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium kimia dan mikrobiologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Pelaksanaan penelitian berlangsung dari bulan September 2013 sampai dengan Januari 2014.

Tahap penelitian

Sampling dan persiapan sampel

Sebelum dimulai proses ekstraksi, bahan sisa tidak larut alkohol (alcohol-insoluble material/AIM) disiapkan untuk membuang komponen dengan bobot molekul rendah, termasuk sejumlah kecil asam galakturonat bebas²⁷. Kulit jeruk nipis dipotong-potong; kemudian

dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C. Kulit jeruk kering dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya, bahan sisa tidak larut alkohol (*alcohol insoluble material/ AIM*) disiapkan dengan merendam bubuk kulit jeruk kering menggunakan alkohol 70% (v/v) pada suhu 70°C selama 20 menit berturut-turut dilakukan sebanyak empat kali untuk membuang gula bebas, pigment, komponen pengotor lainnya sebanyak mungkin, mengikuti prosedur dari Koubala et al.¹². Bahan AIM kemudian dikeringkan menggunakan etanol 90% (v/v), ditempatkan di atas baki aluminium selama lima jam untuk menguapkan sisa-sisa alkohol, kemudian dikeringkan menggunakan oven selama 15-16 jam (modifikasi metode Yapo and Koffi¹³). Bahan sisa tidak larut alkohol yang kering tersebut disimpan di tempat kering sampai dilakukan proses ekstraksi.

Produksi pektin dari kulit jeruk nipis

Untuk memperoleh LMP, penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh pengaruh suhu dan waktu secara mandiri dengan pelarut asam sitrat²⁸. Suhu dan waktu terpilih kemudian digunakan pada penelitian utama. Ekstraksi pektin dari kulit jeruk nipis dilakukan dengan modifikasi metode Yapo and Koffi¹³. Secara umum, karakteristik pektin dipengaruhi oleh kondisi proses ekstraksi (suhu, waktu, keasaman/pH dan tipe pelarut). Tipe pelarut, pH dan lama waktu pada penelitian pendahuluan mengacu pada berbagai hasil penelitian terdahulu pada ekstraksi pektin dari berbagai kulit jeruk yang menghasilkan DE rendah (<50%) yaitu dengan asam sitrat pada pH 2 selama 60 menit.

1 Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan dua tahap. Penelitian pendahuluan tahap pertama bertujuan untuk mendapatkan suhu ekstraksi terbaik. Penelitian didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan suhu yaitu A= 60°, B=80°, dan C=100°C, yang diulang tiga kali.

Proses ekstraksi pektin dari kulit jeruk nipis diuraikan sebagai berikut. Pektin diekstrak menggunakan pelarut dan pH perlakuan pada perbandingan padatan dan pelarut sebesar 1:25 (b/v). Dua ekstraksi suksesif dilakukan yaitu t1=60 menit dan t2=10 menit. Pada akhir ekstraksi, ekstrak kental disaring dengan kertas saring halus (60x60 cm²; Filtra). Ekstrak segera distabilkan pada pH 4. Ekstrak kental dari t1 dan t2 disatukan, dilarutkan dan dipresipitasi pada suhu 5°C selama dua jam dengan alkohol 95% sebanyak tiga kali volume ekstrak. Ekstrak disaring selama satu malam. Presipitat lalu dicuci dua kali dengan etanol 70% dan terakhir dengan etanol 95%. Sisa alkohol dibuang dengan penyaringan selama lima jam.

Presipitat dikeringkan dengan oven suhu 40-50°C selama 15-16 jam pada baki gelas. Flake kering dihaluskan kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan disimpan pada kondisi kering di suhu ruang sampai dilakukan analisis parameter mutu. Pengukuran parameter meliputi rendemen pektin⁵, kadar abu dan kadar air menurut metode AOAC²⁹, kadar metoksil, berat ekivalen (BE), serta perhitungan AUA (Anhydro Uronic Acid/asam anhidrouronat) dan derajat esterifikasi (DE) mengacu pada metode Owens et al.³⁰.

Penelitian pendahuluan tahap kedua bertujuan untuk memperoleh waktu ekstraksi pektin yang terbaik. Desain penelitian menggunakan RAL dengan perlakuan lama waktu ekstraksi yang meliputi: A= 45 menit, B= 90 menit, dan C= 135 menit, sebagai lama waktu ekstraksi pada t1. Penelitian tahap kedua ini menggunakan tiga ulangan dengan parameter pengukuran sama dengan tahap pertama. Data yang dihasilkan dari tahap pertama dan kedua dianalisis statistik menggunakan sistem analisis statistik SPSS for windows (ver. 17). Uji Duncan dilakukan untuk mengevaluasi perbedaan nyata diantara nilai rata-rata pada selang kepercayaan 95% (P<0,05).

2 Penelitian utama

Penelitian utama dilakukan untuk memperoleh LMP dari kulit jeruk nipis menggunakan perlakuan tipe dan keasaman pelarut. Kondisi proses ekstraksi pektin menggunakan suhu dan lama waktu ekstraksi terbaik dari hasil penelitian pendahuluan tahap pertama dan kedua.

Rancangan percobaan dan analisis statistik penelitian utama

Empat kondisi ekstraksi pektin dari kulit jeruk nipis pada penelitian utama didesain menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah pelarut (P) terdiri atas P1 (amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat) dan P2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida), dan faktor kedua adalah pH atau tingkat keasaman (K) terdiri atas K1 (pH 1) dan K2 (pH 2). Pada penggunaan pelarut amonium oksalat+asam oksalat dilakukan 45 menit dan penggunaan asam sitrat atau asam klorida selama 10 menit. Susunan perlakuan adalah sebagai berikut:

1. P1K1 = [amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat; pH 1]
2. P1K2 = [amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat; pH 2]
3. P2K1 = [amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 1]
4. P2K2 = [amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 2]

Konsentrasi amonium oksalat yang digunakan adalah 0,25% (keasaman pH 2 menggunakan asam oksalat). Sebagai pembanding digunakan pektin yang diekstraksi dari kulit jeruk nipis menggunakan pelarut asam sitrat pada waktu ekstraksi pertama (t1) dan asam klorida pada waktu ekstraksi kedua (t2) dengan keasaman pelarut pada pH 2. Pengukuran parameter pektin hasil penelitian utama adalah sama dengan pada penelitian pendahuluan meliputi rendemen, kadar air dan abu, nilai DE dan BE, kadar metoksil, dan kadar AUA. Data yang dihasilkan selanjutnya dianalisis statistik menggunakan sistem analisis statistik SPSS for windows (ver. 17). Uji Duncan dilakukan untuk mengevaluasi perbedaan nyata diantara nilai rata-rata pada selang kepercayaan 95% ($P < 0,05$).

Analisis dan karakterisasi pektin kulit jeruk nipis

Pengukuran rendemen pektin

Rendemen pektin dicatat sebagai persentase hasil yaitu gram pektin kering per gram bubuk kulit jeruk⁵.

Pengukuran kadar abu dan air

Kadar abu diukur dengan menimbang satu gram pektin, kemudian dipanaskan di dalam tanur bersuhu 600°C selama empat jam. Residu didinginkan di dalam desikator dan ditimbang hingga berat konstan. Untuk mengukur kadar air, satu gram pektin dikeringkan pada suhu 100°C selama empat jam hingga berat konstan^{29AOAC}.

Pengukuran berat ekuivalen

Pengukuran kadar metoksil, AUA, dan BE dilakukan dengan metode Owens et al.^{30Owens}. Nilai BE digunakan untuk menghitung kadar AUA dan DE. Berat ekuivalen diukur dengan menimbang 0,5 g pektin dalam tabung kemudian dibasahi dengan lima mL etanol. Satu gram NaCl ditambahkan untuk mempertajam hasil akhir. Air distilasi bebas karbon (100 mL) dan enam tetes indikator fenol merah ditambahkan. Campuran kemudian diaduk dengan cepat agar seluruh substansi pektat terlarut dan tidak ada gumpalan. Titrasi dilakukan perlahan (untuk menghindari kemungkinan deesterifikasi) dengan NaOH 0,1 N (sudah distandarisasi) hingga warna indikator berubah menjadi pink (pH 7,5) dan bertahan selama 30 detik. Larutan yang sudah dinetralisasi digunakan untuk mengukur metoksil. Persamaan yang digunakan untuk menghitung BE adalah sebagai berikut:

$$\text{Equivalent weight} = \frac{\text{weight of sample (g)} \times 1000}{\text{ml of alkali} \times \text{Normality of alkali}}$$

Pengukuran kadar metoksil

Pengukuran kadar metoksil (MeO) dilakukan dengan menambah 25 mL NaOH 0,25N untuk mentitrasi larutan, dikocok dengan kuat dan dibiarkan selama 30 menit di suhu ruang. Dua puluh lima mililiter HCl 0,25N kemudian ditambahkan dan dititrasi hingga titik akhir menghasilkan warna pink seperti sebelumnya. Persamaan berikut digunakan untuk menghitung kadar metoksil:

$$\text{MeO\%} = \frac{\text{meq of sodium hydroxide} \times 31 \times 100}{\text{Weight of sample (mg)}}$$

dimana 31 adalah bobot molekul gugus metoksil.

Penentuan kadar asam anhidrouroat (Anhydrouronic acid/AUA)

Dengan menggunakan nilai BE dan kadar metoksil, asam hidrouroat dihitung dari ekspresi sebagai berikut:

$$\% \text{AUA} = \frac{176 \times 100}{2}$$

dimana 176 adalah bobot molekul AUA, dan

$$2 = \frac{\text{wt of sample (mg)}}{\text{meq of alkali for free acid} + \text{meq of alkali for methoxyl}}$$

Penentuan Derajat Esterifikasi

Derajat esterifikasi (DE) pektin dihitung seperti berikut:

$$\% \text{DE} = \frac{176 \times \text{MeO\%} \times 100}{31 \times \text{AUA\%}}$$

dimana MeO adalah persentase kadar metoksil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1 Penelitian pendahuluan

Berdasarkan hasil, suhu ekstraksi tidak berpengaruh terhadap kadar abu, kadar air, berat ekuivalen dan nilai DE pektin, namun nyata berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap rendemen, kadar metoksil dan AUA (Tabel 1). Pada penelitian pendahuluan tahap pertama ini dipilih suhu 100°C yang menghasilkan pektin dengan kombinasi karakteristik relatif baik yaitu nilai DE yang relatif rendah (80,72%) dengan kadar metoksil 9,49%, kadar AUA 66,79%, dan rendemen tertinggi (7,19%). Suhu ekstraksi 100°C kemudian digunakan untuk ekstraksi pektin tahap selanjutnya. Tabel 1 menunjukkan profil pektin menggunakan pelarut asam sitrat pada beberapa tingkat suhu ekstraksi.

Produksi Pektin Bermetoksil Rendah dari Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) secara spontan menggunakan Pelarut Amonium Oksalat dan Asam (Sri Usmiati, *et al*)

Tabel 1. Hasil penelitian pendahuluan tahap pertama ekstraksi pektin dari kulit jeruk nipis

Table 1. Results of first step of preliminary research the lime peel extraction

No	Perlakuan/ <i>Treatments</i>	Parameter/ <i>Parameters</i>						
		Rendemen (dari AIM)/Yield (from AIM)	K. Abu/ <i>Ash</i> content	K. Air/ <i>Moisture</i>	BE/ <i>Eq.W</i>	K. Metoksil/ <i>Methoxyl</i> content	K. AUA/ <i>AUA</i> content	DE/ <i>DE</i>
1.	A	3,02%a	1,97%a	9,95%a	2050,62a	11,85%a	76,24%a	87,65%a
2.	B	4,83%b	2,98%a	8,64%a	1509,17a	8,69%b	61,08%b	80,78%a
3.	C	7,19% ^c	3,09%a	8,82%a	1417,32a	9,49%ab	66,79%ab	80,72%a

Keterangan/Remarks: A = suhu ekstraksi pektin 60°C; B = suhu ekstraksi pektin 80°C; C = suhu ekstraksi pektin 100°C

A =pectin extraction temperature of 60°C; B =pectin extraction temperature of 80°C; C =pectin extraction temperature of 100°C

Hidrolisis kimia pektin menggunakan asam pada suhu tinggi merupakan dua fenomena simultan yaitu pertama, terlepasnya gula-gula sebagai produk hidrolisis pektin; kedua, degradasi pektin karena pengaruh asam dan suhu panas³¹. Derajat esterifikasi yang rendah dihasilkan oleh pektin yang banyak termetilasi⁴, yaitu lepasnya gugus metil sehingga pektin mengandung gugus karboksil. Pada tahap ini masih dihasilkan pektin bermetoksil tinggi (DE>50%). Penggunaan suhu ekstraksi hingga 100°C belum mampu meningkatkan banyaknya pektin yang termetilasi.

Kadar metoksil pektin bervariasi tergantung pada derajat metilasi atau derajat esterifikasi³². Pektin dengan nilai DE rendah umumnya memiliki kadar metoksil yang rendah. Pada Tabel 1, suhu tinggi 100°C menghasilkan kadar metoksil pektin yang rendah (9,49%) sejalan dengan nilai DE (80,72%). Pada suhu rendah kemungkinan proses hidrolisis pemutusan rantai pektin terhambat, sehingga kadar metoksil masih tinggi.

Kadar AUA yang tinggi kemungkinan disebabkan oleh reaksi hidrolisis protopektin menjadi asam D-anhidroglakturonat³³. Fraeye *et al.* menyatakan bahwa pada suhu tinggi terjadi peningkatan hidrolisis oleh asam pada sisi rantai gula pektin yang meningkatkan kadar AUA. Tren sebaliknya pada ekstraksi dengan suhu rendah menggunakan asam sitrat (asam lemah), hasilnya mirip dengan ekstraksi menggunakan air panas. Koubala *et al.*¹² melaporkan bahwa ekstraksi pektin dari kulit 'ambarella' menggunakan pelarut air kaya akan asam uronat. Kadar AUA menunjukkan tingkat kemurnian

pektin. Menurut Food Chemicals Codex³⁵ untuk kemurnian pektin maka AUA >65%. Kadar AUA dengan perlakuan suhu ekstraksi 100°C adalah 66,79%, artinya ekstrak pektin termasuk memiliki kemurnian tinggi.

Menurut Rha *et al.*³⁶, rendemen pektin tergantung kepada kondisi ekstraksi. Rendemen pektin tinggi pada suhu ekstraksi yang tinggi dan asam³⁶. Asam yang panas membantu melarutkan pektin dan komponen pektat lainnya yang tertahan dalam dinding sel tanaman (protopektin), sehingga dapat meningkatkan rendemen pektin³⁷. Selain itu, tingginya rendemen pektin kemungkinan disebabkan oleh kontribusi kadar abu yang tinggi¹⁷. Kadar abu pektin pada ekstraksi suhu 100°C adalah tertinggi (3,09%) dengan rendemen 7,19% (Tabel 1). Pada suhu rendah, dihasilkan rendemen pektin yang kecil karena terhambatnya proses hidrolisis protopektin oleh asam⁴.

Hasil penelitian pendahuluan pada tahap dua menunjukkan bahwa perlakuan nyata ($P < 0,05$) mempengaruhi kadar abu, air, dan metoksil, namun tidak membedakan nilai rendemen, BE, DE dan kadar AUA (Tabel 2). Dengan mengacu pada tujuan penelitian utama untuk memperoleh LMP, maka dipilih lama waktu ekstraksi 45 menit. Pektin yang dihasilkan memiliki karakteristik nilai DE relatif paling rendah (72,21%), dengan rendemen dan nilai AUA yang baik masing-masing 6,93% dan 11,37%. Karakteristik pektin menggunakan pelarut asam sitrat dengan perlakuan lama waktu ekstraksi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penelitian pendahuluan tahap kedua ekstraksi pektin dari kulit jeruk nipis

Table 2. Results of first step of preliminary research the lime peel extraction

No	Perlakuan/ Treatments	Parameter/ Parameters						
		Rendemen (dari AIM)/ Yield (from AIM)	K. Abu/ Ash content	K. Air/ Moisture	BE/ Eq. W	K. Metoksil/ Methoxyl content	K. AUA/ AUA content	DE/ DE
1.	A	6,93%a	3,61%ab	8,49%a	5628,58a	1,45%a	11,37%a	72,21%a
2.	B	6,67%a	3,39%a	8,15%a	5489,13a	1,54%ab	11,96%a	72,99%a
3.	C	7,47%a	3,75%b	6,85%b	6203,54a	1,61%b	12,25%a	75,08%a

Keterangan/Remarks:

A = lama waktu ekstraksi pektin 45 menit; B = lama waktu ekstraksi pektin 90 menit; C = lama waktu ekstraksi pektin 135 menit

A = time of pectin extraction of 45 min; B = time of pectin extraction of 90 min; C = time of pectin extraction of 135 min

Berdasarkan Tabel 2, pektin yang diperoleh merupakan pektin bermetoksil tinggi (DE>50%). Penggunaan waktu ekstraksi hingga 135 menit kemungkinan pektin masih banyak yang belum termetilasi (pektin masih teresterifikasi). Tabel 2 menunjukkan tren nilai DE yang relatif rendah pada waktu ekstraksi yang singkat. Tren nilai DE sejalan dengan tren kadar metoksil, dengan waktu ekstraksi pektin 45 menit menghasilkan kadar metoksil sebesar 1,45%.

Rendemen pektin pada tahap penelitian ini tidak berbeda antara perlakuan walaupun diekstraksi dengan lama waktu hingga 135 menit (Tabel 2). Waktu ekstraksi yang lebih lama (>60 menit) tidak membantu meningkatkan rendemen pektin³⁹. Hal yang sama terjadi pada kadar AUA. Menurut Liang et al.⁴, tidak ada perbedaan kadar AUA berdasarkan perbedaan lama waktu ekstraksi. Namun, terdapat tren nilai AUA yang lebih tinggi (12,25%) pada waktu 135 menit. Menurut Chan and Choo⁴, waktu ekstraksi yang lebih lama kemungkinan berkontribusi pada besarnya kadar AUA karena terjadi peningkatan proses hidrolisis pada sisi rantai gula pektin. Berdasarkan Tabel 2, nilai AUA pektin berkisar 11,37-12,25%, lebih rendah dari 65% sehingga pektin termasuk memiliki tingkat kemurnian yang rendah. Ketidakmurnian pektin kemungkinan disebabkan oleh protein, pati dan gula dalam proses pengendapan pektin⁵. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai AUA pektin sejalan

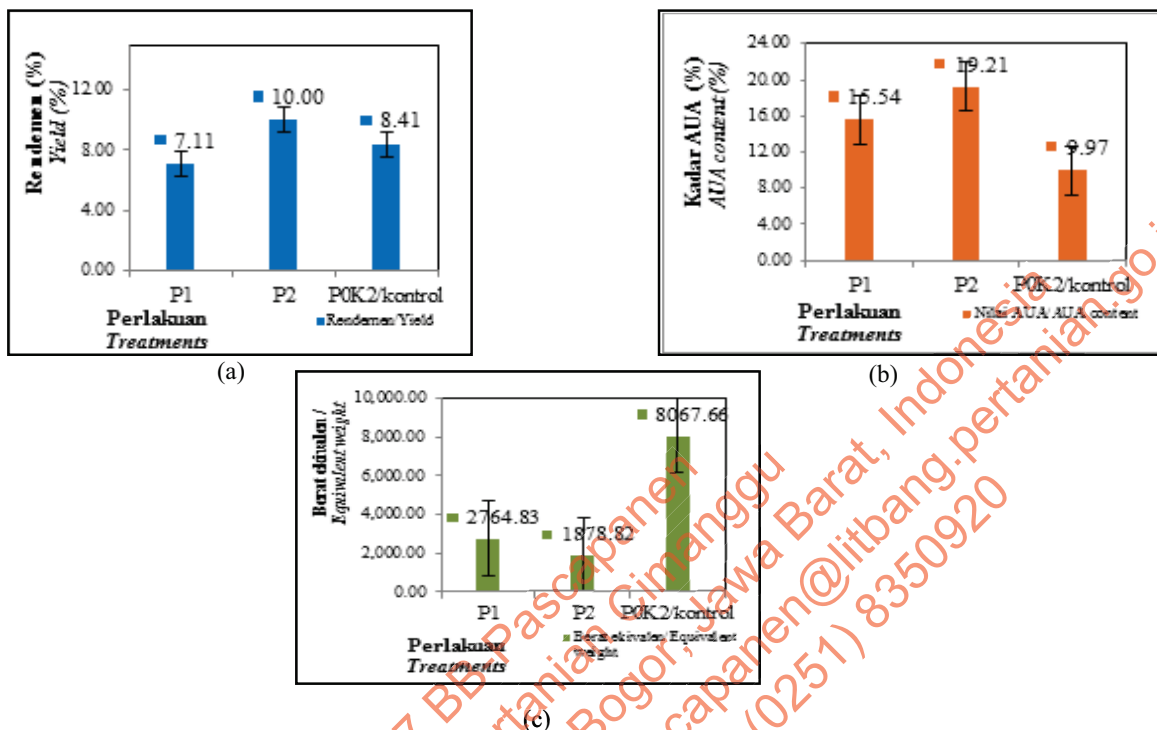
dengan kadar abu, tampaknya tidak ada kontribusi kadar abu yang membedakan nilai AUA.

Berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan, maka suhu 100°C dan lama waktu ekstraksi 45 menit digunakan pada penelitian utama. Penelitian produksi pektin bermetoksil rendah secara langsung dari bubuk kulit jeruk nipis dilakukan dengan perlakuan tipe pelarut kombinasi amonia dengan asam.

2 Penelitian Utama

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tipe pelarut (P) berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap rendemen, AUA dan berat ekivalen pektin dari kulit jeruk nipis (Gambar 1), namun tidak nyata terhadap kadar abu, kadar air, kadar metoksil dan nilai DE. Perlakuan tingkat pH memberikan hasil yang tidak berbeda pada seluruh parameter pengukuran, dan antar perlakuan tidak menunjukkan adanya interaksi.

Menurut Yeoh et al.⁴⁰, diantara berbagai kondisi ekstraksi, maka rendemen pektin biasanya tergantung pada pelarut ekstraksi. Tanpa pengaruh nilai pH yang berbeda, rendemen pektin dengan pelarut P2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida) adalah 10,00% lebih tinggi ($P<0,05$) dibanding P1 (amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat) sebesar 7,11% dan pembandingan/ P0K2 (P0) sebesar 8,41% (Gambar 1a).



Gambar 1. Pengaruh tipe pelarut ekstraksi terhadap rendemen (a), kadar AUA (b) dan berat ekuivalen (c) pektin dari kulit jeruk nipis (P1 = amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat; P2 = amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pembanding/POK2 = asam sitrat, asam klorida; pH 2)

Figure 1. The effect of extraction solvent on yield (a), AUA content (b) and equivalent weight (c) of lime peel pectin (P1 = ammonium oxalate+oxalic acid, citric acid; P2 = ammonium oxalate+oxalic acid, chloric acid, POK2 = citric acid, hydrochloric acid; pH 2)

Rendemen pektin yang tinggi disebabkan oleh banyaknya substansi pektat yang terikat lepas dari dinding sel tanaman sumber¹³. Amonium oksalat merupakan agen pengkelat kalsium yang siap mengikat kation dan membantu pektin terlepas dari dinding sel⁴⁰. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa amonium oksalat merupakan ekstrak yang sangat baik¹². Asam klorida (asam kuat) dapat menyebabkan kemampuan untuk melarutkan protopektin di dalam bahan sumber meningkat⁴¹, sehingga menghasilkan rendemen yang tinggi. Hasil penelitian menunjukkan tingkat pH tidak membedakan rendemen pektin. Hal ini kemungkinan jumlah ketersediaan ion OH⁻ pada dua tingkat pH perlakuan tidak cukup membantu melarutkan substansi pektat yang tidak larut air dapat terekstraksi⁴, sehingga rendemen pektin relatif sama.

Bila dibandingkan dengan rendemen pektin dari apel pomace (10-13%), rendemen pektin pada penelitian ini (10%) menunjukkan bahwa kulit jeruk nipis potensial sebagai sumber pektin komersial⁵. Hal ini bermanfaat dalam menyelesaikan masalah manajemen limbah kulit buah serta menjadi penghasilan tambahan dalam pengolahan jus buah pada skala industri.

Nilai AUA pektin yang dihasilkan dengan pelarut P2 (19,21%) nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan pelarut P1 (15,54%) dan pembanding/POK2 (8,41%) (Gambar 1b). Nilai AUA penelitian ini rendah dan menunjukkan bahwa pektin memiliki kemurnian yang rendah (<65%). Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama kemungkinan masih adanya protein, pati dan gula dalam pektin⁵. Kedua, tingkat keasaman dari kedua pelarut kemungkinan belum cukup menciptakan kondisi terjadinya hidrolisis pada sisi rantai gula pektin yang dapat meningkatkan nilai AUA. Ketiga, kadar AUA yang rendah kemungkinan karena adanya kadar abu yang tinggi¹⁷.

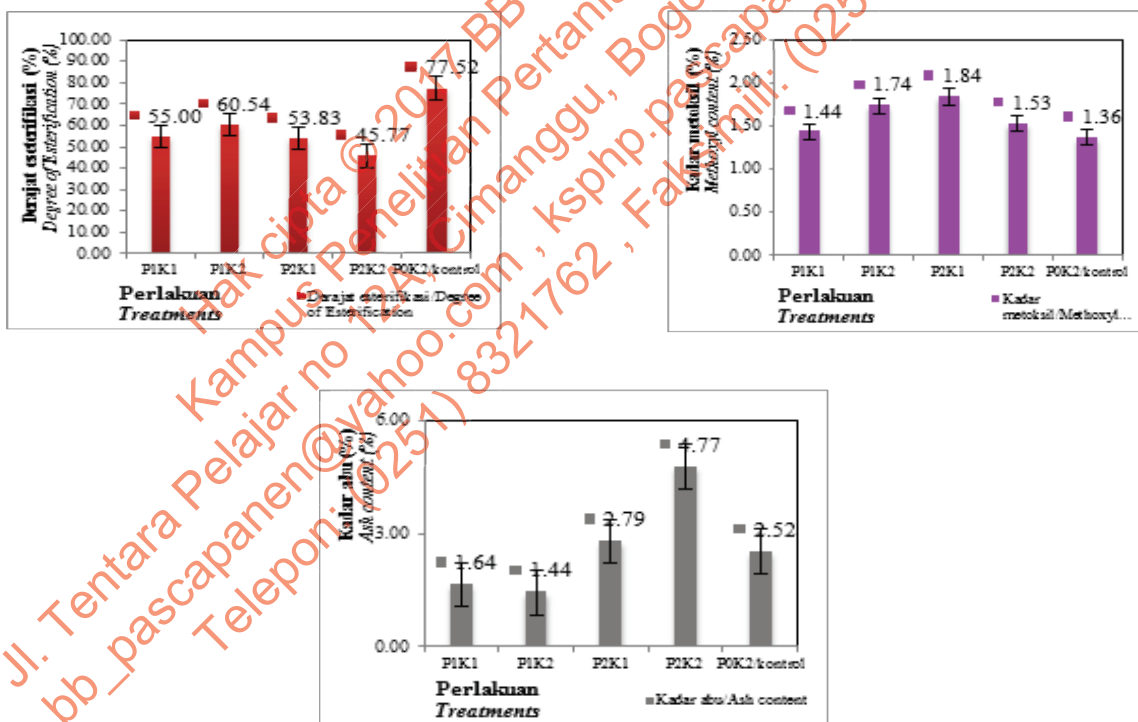
Penggunaan pelarut P2 menghasilkan BE (1878,2) lebih rendah dari pelarut P1 (2764,83) dan pembanding/POK2 (8067,66) (Gambar 1c). Peningkatan derajat esterifikasi menyebabkan penurunan kandungan asam bebas pektin sehingga berat ekuivalen menjadi tinggi⁴². Hal ini berarti bahwa BE pada perlakuan P2 menghasilkan asam galakturonat bebas yang lebih tinggi dari P1 dan pembanding/POK2 karena DE yang lebih rendah. Amonium oksalat tampaknya dapat menurunkan nilai DE. Amonium oksalat dalam sistem cairan/larutan

menyebabkan gugus metoksil pektin lebih mudah terakses ke amonia²⁵, pektin menjadi banyak termetilasi. Selain itu, kondisi asam dan suhu tinggi menyebabkan pektin terdegradasi menjadi protopektin sehingga nilai DE rendah³⁰.

Penelitian menunjukkan terdapat interaksi ($P < 0,05$) antara tipe pelarut dengan tingkat pH terhadap nilai DE, kadar metoksil dan abu pektin dari kulit jeruk nipis, namun tidak ada interaksi dari kedua faktor terhadap BE, kadar abu, kadar air, kadar AUA, maupun rendemen pektin. Nilai DE pektin pada penelitian utama lebih rendah dibandingkan pada penelitian pendahuluan maupun pembandingan/P0K2 (DE 77,52%) (Gambar 2a). Pektin menggunakan pelarut P2K2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 2) memiliki nilai DE terendah (45,77%) dengan kadar metoksil 1,53% (Gambar 2b). Pektin ini termasuk pektin bermetoksil rendah (DE < 50%). Berdasarkan hasil, ekstraksi pektin dengan pelarut amonium+asam dan pH rendah dapat menurunkan nilai DE dibandingkan penggunaan pelarut

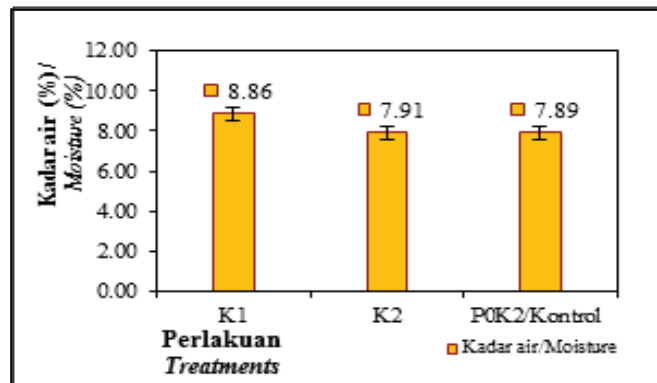
pada penelitian pendahuluan. Nilai DE rendah (45,77%) tampaknya dipengaruhi oleh penggunaan pelarut kombinasi amonium oksalat (agen pengkelat), asam klorida (bersifat asam kuat), dan keasaman rendah pH 2.

Berdasarkan hasil penelitian, kadar abu pektin dari kulit jeruk nipis dipengaruhi ($P < 0,05$) oleh interaksi tipe pelarut dengan tingkat pH dengan kisaran nilai 1,44-4,77%. Gambar 2c menunjukkan bahwa ekstrak pektin dari kulit jeruk nipis memiliki kadar abu tertinggi pada perlakuan P2K2 (4,77%). Penggunaan amonium oksalat kemungkinan menghasilkan gugus amonia dan bereaksi dengan pektin⁴³. Reaksi ini meningkatkan pembentukan ikatan hidrogen diantara rantai pektin, sementara ikatan dengan kalsium menjadi lemah. Pelarut kombinasi amonium oksalat+asam klorida dengan pH 2 dapat meningkatkan hidrolisis protopektin. Hal ini kemungkinan menyebabkan ikatan molekul melalui jembatan kalsium menjadi lemah, sehingga ion kalsium terukur sebagai komponen kadar abu yang tinggi.



Gambar 2. Pengaruh interaksi antara tipe pelarut dan keasaman terhadap DE (a), kadar metoksil (b) dan kadar abu (c) pektin dari kulit jeruk nipis (P1K1 = (amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat; pH 1), P1K2 = (amonium oksalat+asam oksalat, asam sitrat; pH 2), P2K1 = (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 1), P2K2 = (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 2), pembandingan/P0K2 = (asam sitrat, asam klorida; pH 2)

Figure 2. The effect of interaction between extraction solvent and acidity on degree of esterification (DE) (a), methoxyl content (b), and ash content (c) of lime peel pectin (P1K1 = ammonium oxalate+oxalic acid, citric acid; pH 1), P1K2 = (ammonium oxalate+oxalic acid, citric acid; pH 2), P2K1 = (ammonium oxalate+oxalic acid, hydrochloric acid, pH1), P2K2 = (ammonium oxalate+oxalic acid, hydrochloric acid, pH 2), P0K2 = (citric acid, hydrochloric acid; pH



Gambar 3. Pengaruh keasaman terhadap kadar air pektin dari kulit jeruk nipis (K1= pH 1; K2 = pH 2; POK2 (asam sitrat, asam klorida; pH 2))

Figure 3. The effect of acidity on moisture of lime peel pectin (K1 = pH 1; K2 = pH 2; POK2 = citric acid, hydrochloric acid; pH 2)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat keasaman berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar air pektin dengan berkisar 7,91-8,86%, dan tidak mempengaruhi parameter rendemen, kadar abu, kadar metoksil, kadar AUA, serta nilai DE dan BE. Analisis statistik juga menunjukkan tidak terdapat interaksi tipe dan keasaman pelarut terhadap seluruh parameter pengukuran. Berdasarkan Gambar 3, pektin yang diekstrak dengan keasaman K2 (pH 2) memiliki kadar air 7,91% lebih rendah dari perlakuan K1 (pH 1) (8,86%) dan pembandingan POK2 (7,89%).

Berdasarkan hasil penelitian, penggunaan tingkat keasaman ekstraksi pH 2 pektin kemungkinan mempunyai struktur ikatan molekul komponen di dalamnya yang lebih terbuka. Bahan sumber pektin mengalami kerusakan struktur yang kompleks¹⁶ dengan adanya penggunaan pelarut ekstraksi berupa asam dan/atau basa pada tingkat keasaman, suhu dan lama waktu tertentu. Secara alamiah, kadar air pektin yang tinggi kemungkinan berhubungan dengan sifat higroskopis dari bubuk pektin kering³⁹, sehingga mudah menyerap air dari lingkungan.

KESIMPULAN

Dari penelitian pendahuluan tahap pertama diperoleh suhu ekstraksi pektin terbaik adalah 100°C dan tahap kedua memperoleh lama waktu ekstraksi terbaik selama 45 menit. Interaksi tipe dan tingkat keasaman pada perlakuan P2K2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 2) dapat langsung menghasilkan pektin bermetoksil rendah dari kulit jeruk nipis dengan nilai DE 45,77%, kadar metoksil 1,53% dan kadar abu

4,77%. Pelarut amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida (P2) pada kedua tingkat pH menghasilkan rendemen pektin 10,0%, kadar AUA 19,21%, dan nilai BE 1878,82. Kadar air pektin sebesar 7,91% dihasilkan dari tingkat pH 2 (K2) pada kedua tipe pelarut. Untuk memperoleh pektin bermetoksil rendah dari kulit jeruk nipis direkomendasikan menggunakan pelarut P2K2 (amonium oksalat+asam oksalat, asam klorida; pH 2) pada suhu ekstraksi 100°C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Badan Litbang Pertanian yang menyediakan dana penelitian T.A 2014. Terima kasih juga disampaikan kepada Amelia yang telah membantu penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Basanta MF, Ponce NMA, Rojas AM, Stortz CA. Effect of extraction time and temperature on characteristics of loosely bound pectins from Japanese plum. *Carbohydrate Polym.* 2012; 89:230-235.
2. Yuliarti O, Matia-merino L, Goh KKT, Mawson J, Williams MAK. Characterization of gold kiwifruit pectin from fruit of different maturities and extraction methods. *Food Chem.* 2015; 166:479-485.
3. Hua X, Wang K, Yang R, Kang J, Zhang J. Rheological properties of natural low-methoxyl pectin extracted from sunflower head. *Food Hydrocol.* 2015; 44:122-128.
4. Chan SY, Choo WS. Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chem.* 2013; 141:3752-3758.

5. Ismail NSM, Ramli N, Hani NM, Meon Z. Extraction and characterization of pectin from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) using various extraction conditions. *Sains Malaysiana*. 2012; 41(1): 41–45.
6. Castillo-Israel KAT, Baguio SF, Diasanta MDB, Lizardo RCM, Dizon EI, Mejico MIF. Extraction and characterization of pectin from Saba banana (*Musa saba*) (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*) peel wastes: a preliminary study. *Intl. Food Res. Journal*. 2015; 22(1):202-207.
7. Ukiwe LN, Alinnor JI. Extrctation of pectin from pineapple (*Ananas comosus*) peel using inorganic/organic acids and luminium chloride. *Fresh Produce*. 2011; 5(1):80-83.
8. Rockwell PL, Kiechel MA, Atchison JS, Toth LJ. Various-sourced pectin and polyethylene oxide electrospun fibers. *Carbohydrate Polym*. 2014; 107:110-118.
9. Shukla RN, Bala KL, Kumar A, Mishra AA, Yadav KC. Extraction of pectin from citrus fruit peel and its utilization in preparation of jelly. *Intl. J. oEngineer. Res and Technol*. 2014; 3(5):1925-1932.
10. Masmoudi M, Besbes S, Chaabouni M, Robert C, Paquot M, Blecker C. Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polym*. 2008; 74:185-192.
11. Kliemann E, Nunes deSimas K, Amante ER, Prudencio ES, Teofilo RF, Ferreira MMC, Amboni RDMC. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. *Int. J. Food Sci. Technol*. 2009; 44:476-483.
12. Koubala BB, Kansci G, Mborne LI, Crepeu MJ, Thibault JF, Ralet MC. Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from Ameliorée and Mango peels. *Food Hydrocol*. 2008; 22(7):145-153.
13. Yapo BM, Koffi KL. Extraction and characterization of highly gelling low methoxy pectin from cashew apple pomace. *Foods*. 2014; 3: 1-12.
14. Sharma PC, Gupta A, Kaushal P. Optimization of method for extraction of pectin from apple pomace. *Indian J. Of Natural Prod. And Res*. 2014; 5(2):184-189.
15. Azad AKM, Ali MA, Akter MS, Rahman MJ, Ahmed M. Isolation and characterization of pectin extracted from lemon pomace during ripening. *J. of Food and Nutr. Sci*. 2014; 2(2): 30-35.
16. Jeong HS, Kim HY, Ahn SH, Oh SC, Yang I, Choi IG. Effects of combination processes on the extraction of pectins from repesed cake (*Brassica napus* L). *Food Chem*. 2013; 139:9-15.
17. Liang RH, Chen J, Liu CM, Yu W, Yuan M, Zhou XQ. Extraction, characterization and spontaneous gel-forming property of pectin from creeping fig (*Ficus pumila* linn) seeds. *Carbohydrate Polym*. 2012; 87:76-83.
18. Srivasta P, Malviya R. Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry – An Overview. *Indian J. of Natural Products and Resources*. 2011; 2(1): 10-18.
19. Fishman ML, Chau HK, Hoagland PD, Hotchkiss AT. Microwave-assisted extraction of lime pectin. *Food Hydrocol*. 2006; 20: 1170–1177.
20. Devi WE, Shukla RN, Abraham A, Jarpula S, Kaushik U. Optimized extraction condition and characterization of pectin from orange peel. *Intl. J. of Res. in Engineer. and Adv. Technol*. 2014;2(2):1-9.
21. Koubala BB, Christaens S, Kansci G, Van Loey AM, Hendrickx ME. Isolation and structural characterisation of papaya peel pectin. *Food Res. Intl*. 2014; 55: 215-221.
22. Lokhande AR, Wani KS, Siddiqui MAS. Study of pectin from *Magnifer aindica* and *Artocarpus heterophyllus*. *International Conference on Global Trends in Engineering, Technology and Management*. 2016: 375-381.
23. Liew SQ, Chin NL, Yusof YA. Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. *Agriculture and Agricultural Science Proceedia*. 2014; 2: 231-236.
24. Kang J, Hua A, Yang R, Chen Y, Yang H. Characterization of natural low-methoxyl pectin from sunflower head extracted by sodium citrate and purified by ultrafiltration. *Food Chemistry*. 2015; 180: 98-105.
25. Naghshineh M, Olsen K, Constantinou A, Georgiou. Sustainable production of pectin from lime peel by high hydrostatic pressure treatment. *Food Chem*. 2013; 136: 472–478.
26. El-Nawawi SA, Heikal YA. Production of a low ester pectin by de-esterification of high ester citrus pectin. *Carbohydrate Polymers*. 1995; 27: 191-195.
27. Happi ET, Ronkart SN, Robert C, Wathelet B, Paquot M. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. *Food Chem*. 2008; 108: 463-471.
28. Kurita O, Fujiwara T, Yamazaki E. 2008. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. *Carbohydr. Polym*. 74: 725-730.
29. AOAC. Official Methods of Analysis. 13th ed. Washington DC; 2005.
30. Owens HS, McCready RM, Shepard AD, Schultz TH, Phippen EL, Swenson HA, Miers JC, Erlandsen RF, Maclay WD. Methods used at Western Regional Research Laboratory for Extraction of Pectic Materials. *USDA Bur. Agric. Ind. Chem*. 9. 1952.
31. Garna H, Mabon N, Wathelet B, Paquot M. New method for a two-step hydrolysis and chromatographic analysis of pectin neutral sugar chains. *J. of Agric. and Food Chem*. 2004; 52: 4652–4659.
32. Madhav A, Pushpalatha PB. Characterization of pectin extracted from different fruit wastes. *Journal of Tropical Agric*. 2002; 40: 53-55.

33. Nazaruddin R, Asmawati. Effect of ammonium oxalate and acetic acid at several extraction time and pH on some physicochemical properties of pectin from cocoa husks (*Theobroma cacao*). *African Journal of Food Science*. 2011; 5(15): 790-798.
34. Fraeye L, DeRock A, Duvetter T, Verlent I, Hendrickx M, vanLoey A. Influence pectin properties and processing conditions on thermal pectin degradation. *Food Chem*. 2007; 105:555-563.
35. Food Chemical Codex. IV monographs. pp. 283. Washington DC: National Academy Press; 1996.
36. Rha HJ, Bae IY, Lee S, Yoo SH, Chang PS, Lee HG. Enhancement of anti-radical activity of pectin from apple pomace by hydroxamation. *Food Hydrocol*. 2011; 25: 545-548.
37. Kulkarni SG, Vijayanand P. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.). *LWT - Food Sci. and Technol*. 2010; 43: 1026-1031.
38. Greve LC, McArdle RN, Gohlke JR, Labavitch JM. Impact of heating on carrot firmness: Changes in cell wall components. *J. of Agric. and Food Chem*. 1994; 42: 2900-2906.
39. Nazaruddin R, Noor Baiti AA, Foo SC, Tan YN, Ayob MK. Comparative chemical characteristics of hydrochloric acid- and ammonium oxalate-extracted pectin from roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces. *Intl. Food Res. Journal*. 2013; 20(1): 281-284.
40. Yeoh S, Shi J, Langrish TAG. Comparison between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. *Desalination*. 2008; 218: 229-237.
41. Methacanon P, Kongsin J, Gamonpilas C. Pomelo (*Citrus maxima*) pectin: Effects of extraction parameters and its properties. *Food Hydrocol*. 2014; 35:383-391.
42. Rouse AH. Pectin: distribution, significance. In Nagy, S.P, Shaw, E., Veldhuis, M.K. (eds). *Citrus Science and Technol*. (1). The AVI Publishing Company Inc. 1977.
43. Capel F, Nicolai T, Durand D. Influence of chain length and polymer concentration on the gelation of (amidated) low methoxyl pectin induced by calcium. *Biomacromolecules*. 2005; 6(6): 2954-2960.

Hak cipta © 2017 BP Pascapanen
Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor, Jawa Barat, Indonesia
Jl. Tentara Pelajar no 12A, Cimanggu, Bogor, Jawa Barat, Indonesia
Email: bb_pascapanen@yahoo.com, ksphp.pascapanen@kbbp.pertanian.go.id
Telepon: (0251) 8321762, Faksimili: (0251) 8350920